PENTAX® Cell Column

ヒトTリンパ球分離カラム

特　長

高速分離

分離操作は10〜15分間で終了しますから，効率の良い作業ができます。

高分離能

Bリンパ球を選択的に吸着するので，高純度のTリンパ球が得られます。

高回収率

Tリンパ球には影響を与えないので，高い回収率が得られます。

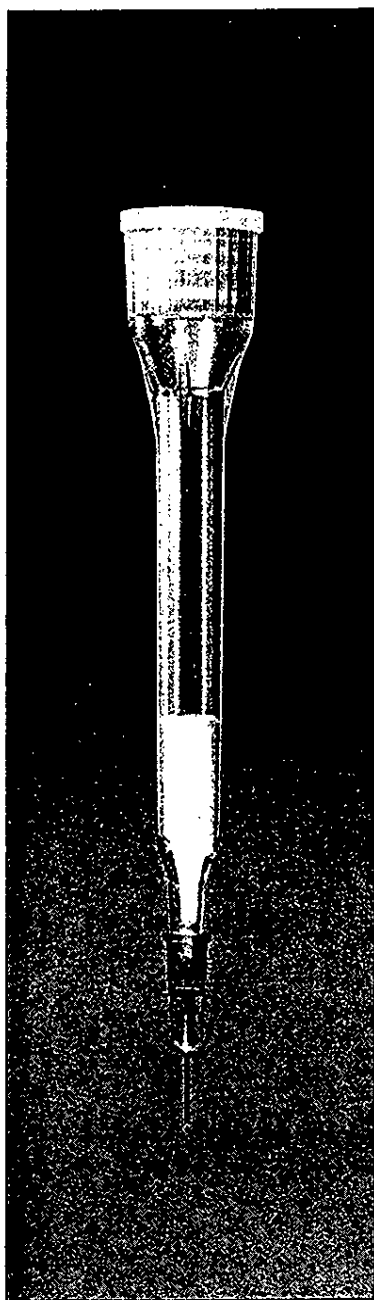
簡単な操作

複雑な前処理は不要です。付属のスタンドを用いて，だれでも簡単に確実な無菌的分離操作を行なえます。

全血による分離

1 mℓまでの全血を用いて，直接Tリンパ球を分離することも可能です。

アパタイト分離剤

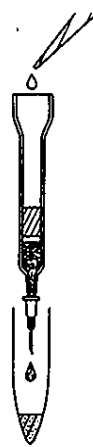
分離剤には，生体材料として評価の高い，高純度ハイドロキシアパタイト（リン酸カルシウムセラミックス）を使用しています。

操作方法

①洗浄

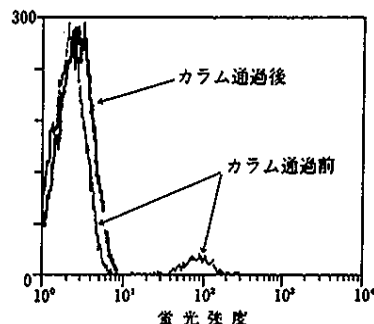
37℃の培養液約2mlをカラムに通し，分離剤を洗浄する。

②吸着

37℃の培養液0.2mlに浮遊させたリンパ球を静かに流す。
（1mlまでなら全血をそのまま流すことも可能です。）

③回収

37℃の培養液3mlで細胞を洗い出す。

分離例

(1) FACS解析パターン

資料提供：防衛医科大学校細菌学教室　鶴純明助教授

細　　胞：ヒトリンパ球
負 荷 量：2×10^6個
流出速度：3ml/15分
抗　　体：CD19
蛍光色素：Phycoerythrin (PE)

(2) Tリンパ球サブセットの分布

抗　体	カラム通過前	通過後
CD8（抗Leu 2a）	28±8％	27±3％
CD4（抗Leu 3a）	45±10	50±5
CD16（抗Leu11）	15±7	15±5

製品仕様

・用　　途：ヒトTリンパ球分離
・寸　　法：φ20×ℓ128mm（26G針付）（最大）
・分 離 剤：合成ハイドロキシアパタイト
・使用回数：1回（ディスポーザブルタイプ）
・製品形態：滅菌済カラム5本入（26G針付）
専用スタンド付

●本製品は研究用のものです。臨床には使用できません。

(参考文献)

Tsuru, S., et. al. (1988) A rapid method for the isolation of functional human T lymphocytes using hydroxyapatite column fractionation. J. Immunol. method. 106, 169.

改良のため製品の仕様は予告なしに変更することがあります。

PENTAX®
旭光学工業株式会社
ニューセラミックス部
〒174 東京都板橋区前野町2-36-9
☎03(960)5161(代) FAX.03(969)2499

販売店

CC-201

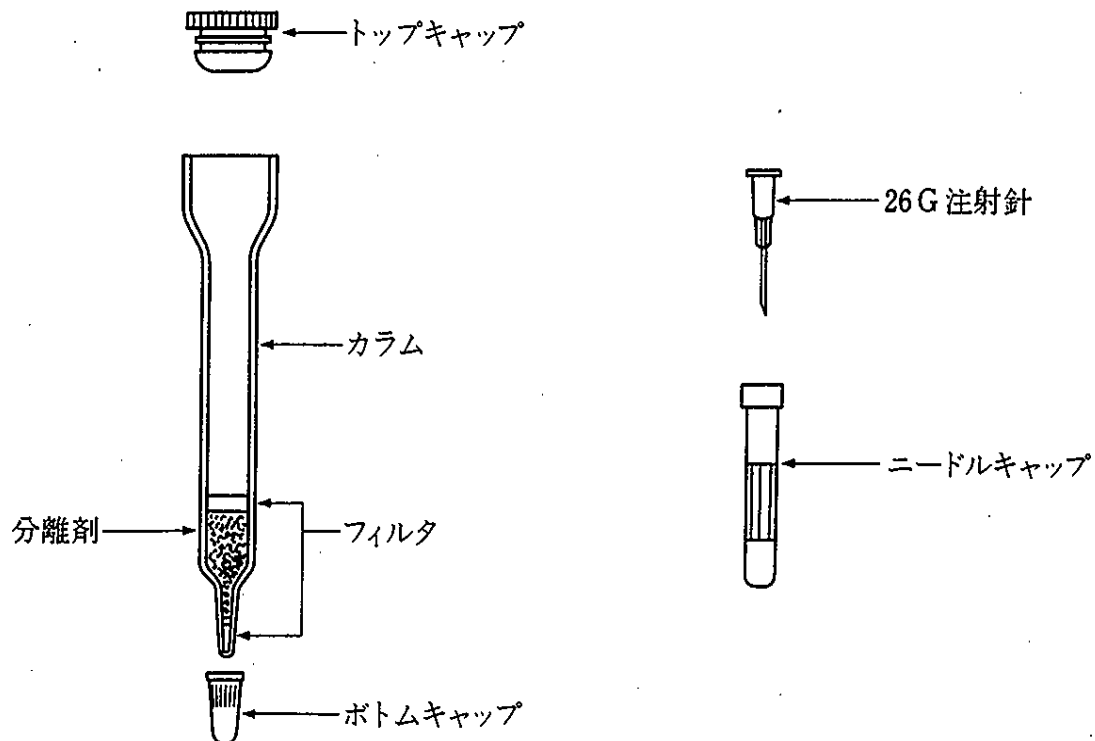
PENTAX Cell Column

ヒトTリンパ球分離カラム取扱説明書

PENTAX Cell Column は，ハイドロキシアパタイト分離剤を用いたヒトTリンパ球分離カラムです。前処理などを必要とせず，従来法に比べて簡単にTリンパ球の無菌的分離回収ができます。また，全血による分離も可能です。

1．内　容

① カラム ┐ 滅菌済包装　5組
② 26G注射針 ┘
③ 専用スタンド　1脚

2．カラム各部の名称

※用意するもの

① リンパ球回収用チューブ：10mℓ位の遠心管が適当です。
② 培養液：Hank's液(HBSS)をお薦めします。尚，PBS(Phosphate Buffered Saline）はBリンパ球の吸着を阻害する傾向がありますので使用は避けて下さい。
③ 洗浄液回収容器

3．操作方法

A．リンパ球浮遊液を用いる場合

(1) リンパ球の調整

① Ficoll-Hypaque比重遠心法などにより，リンパ球を全血から分離する。

② リンパ球を37℃の培養液0.2mℓに浮遊させる。

(2) 分離操作

① トップキャップとボトムキャップをはずし，カラムをスタンドに立てる。

② 洗浄液回収容器をカラムの下に置き，37℃の培養液約２mℓをカラムに流し，分離剤を洗浄する(図１)。

③ 洗浄液が流出し始めたら，26G注射針を着ける。その際，注射針に気泡が入らないように注意する(図１)。

④ 洗浄液が流出し終わったら，カラムの下にリンパ球回収用チューブをセットする。

⑤ 37℃，0.2mℓの培養液に浮遊させたリンパ球を，静かにカラムに流す(図２)。

⑥ リンパ球浮遊液が分離剤に浸透したら，37℃の培養液３mℓで洗い出しＴリンパ球を回収する(図３)。

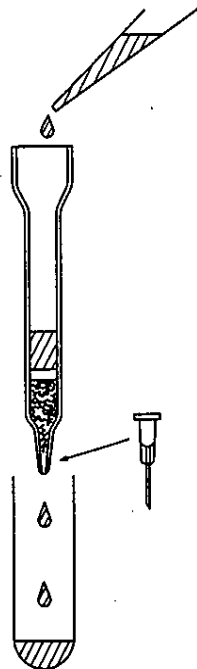
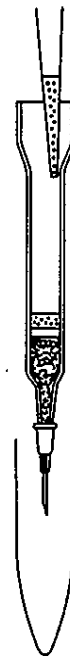



図１　　　図２

B. 全血を用いる場合

① ドップキャップとボトムキャップをはずし，カラムをスタンドに立てる。
② 26G注射針を着け，カラムの下にリンパ球回収用チューブをセットする。
③ 0.5～1 mℓの全血を直接カラムに流す。
④ 流出した血液を溶血操作後，Tリンパ球を回収する。

4. 操作上の注意

① カラム1本あたりのリンパ球負荷量は，2×10^7個以下にして下さい。
② 分離操作中は，できるだけカラムの温度を37℃に保つように注意して下さい。
③ リンパ球が多い場合は，インキュベーション(37℃，30分程度)を行なったほうが分離効率は向上します。
④ 無菌的に回収する場合には，無菌操作を必要とします。
⑤ 注射針をカラムに装着する場合，注射針の液溜に培養液を溜めてから装着すると気泡が入りにくくなります(図4)。

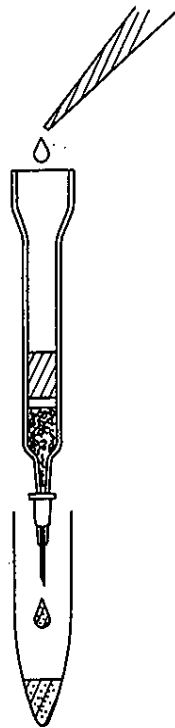
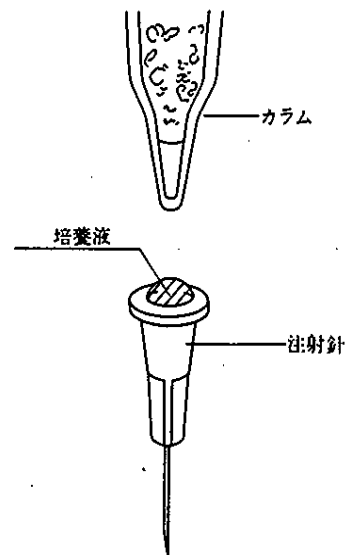
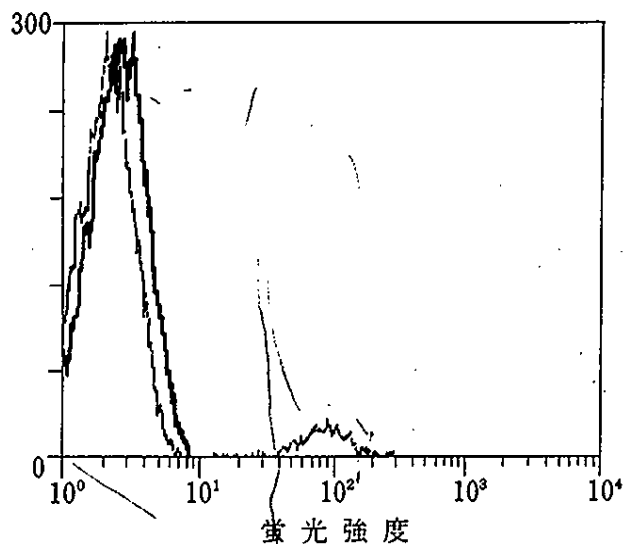



図3　　　　図4

4. 使 用 例

(1) FACS解析パターン

細　　胞：ヒトリンパ球
負 荷 量：2×10^6個
流出速度：3 mℓ/15分
抗　　体：CD19(抗Leu12：抗Bリンパ球抗体)
蛍光色素：Phycoerythrin(PE)

―― カラム通過前
━━ カラム通過後

※全血の場合，1 mℓまでならば同様の分離が得られます。

資料提供：防衛医科大学校細菌学教室　鶴純明助教授

(2) Tリンパ球サブセットの分布

抗　体	カラム通過前	通 過 後
CD 8 (抗Leu2a)	28± 8 %	27± 3 %
CD 4 (抗Leu3a)	45±10	50± 5
CD16(抗Leu11)	15± 7	15± 5

(参考文献)

Tsuru, S., et. al. (1988) A rapid method for the isolation of functional human T lymphocytes using hydroxyapatite column fractionation. J.Immunol. method. 106,169.

5. 使用上の注意

① 本品は研究用です。臨床治療には使用できません。

② 本品は滅菌済み製品です。一回限り使用可能です。

旭光学工業株式会社
ニューセラミックス部
〒174 東京都板橋区前野町2-36-9
☎03(960)5161(代) FAX.03(969)2499